Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Article
Vol. 15, No.4, 2023, p. 570-584

Study of Signatures of Positive Selection and Gene Ontology in some Domestic and Wild Sheep Breeds in Iran

Majid Bigham[1], Mohammadreza Nassiri[2*], Mahyar Heydarpour[3], Ali Javadmanesh[4]

1- Ph.D. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
2- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
3- Department of Medicine, Massachusetts General Brigham, Harvard, Medical School, Boston, USA.
4- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
*Corresponding Author's Email: nassiryr@um.ac.ir

Received: 12-12-2022
Revised: 08-02-2023
Accepted: 15-02-2023
Available Online: 07-06-2022

How to cite this article:
Bigham, M., Nassiri, M. R., Heydarpour, M., & Javadmanesh, A. (2023). Study of signatures of positive selection and gene ontology in some domestic and wild sheep breeds in Iran. *Iranian Journal of Animal Science Research*, *15*(4), 570-584. (in Persian with English abstract).
https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.79931.1112

Introduction: Over the years, animals have been exposed to various factors such as natural selection, genetic drift, and multiple mutations, so such factors have caused changes between and within species. The genetic mutations that occur in the populations of domestic animals, will be added to the merits of animals who contain these genetic mutations and they will have more breeds. These mutations are also repeated in their breeds. If a new SNP in a population increases the competence of its carriers compared to other members of society, this choice will make the more deserving individual more involved in shaping the next generation. The most important statistical tests based on demographic differentiation are the FST statistics, which identify distinct positions under positive selection, which are of particular importance for economic characteristics. One of the best ways to understand physiological processes is to analyze gene regulation networks. Identification of genes involved in economic traits as molecular markers in breeding is of special importance. Gene regulation networks enable the researcher to study all of the genes together. The aim of this study was to identify selection signature regions and candidate genes related to economic traits.

Materials and Methods: The necessary data for this research were acquired from two sources, namely NEXTGEN and HAPMAP. The dataset encompassed breeds such as Afshari (41 individuals), Ghezel (35 individuals), Moghani (35 individuals), and eight wild sheep. The initial objective was to assess data quality and perform filtration on raw data. For the remaining single nucleotide polymorphisms (SNPs), those not conforming to Hardy-Weinberg equilibrium were considered indicative of genotyping errors. A stringent probability level of 10^{-6}, determined through Bonferroni correction, was applied. Various stages of quality control were meticulously executed using PLINK v1.9. Additionally, the study involved identifying animals positioned outside their respective groups, contributing to a comprehensive understanding of the population structure within the two groups. Principal component analysis (PCA) were done in R software. The F_{ST} index was proposed to study the distinction between subpopulations and identification of selection signature. the population structure of wild and domestic sheep breeds was analyzed. PCA analysis was performed using genotype information of the samples to investigate how the animals were grouped Investigation of identified genes using SNPs in the upper 1% range of FST were identified by Plink v1.9 software. In addition, the DAVID database (http://david.abcc.ncifcrf.gov) was used to determine biological routes. At this stage, it is assumed that genes that belong to a functional class can be considered as a

https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.79931.1112

group of genes that have some specific and common characteristics. GeneCards (http://www.genecards.org) and UniProtKB (http://www.uniprot.org) databases were also used to interpret the function of the obtained genes.

Results and Discussion: The results showed that adjacent SNPs are highly dispersed in several genomic regions. From 34556 SNPs after filtration above 1%, SNPs with higher FST stabilization index (340 SNP) with FST range from 0.304 to 0.472 were selected. Selected SNPs consisted of 95 genomic regions on 23 chromosomes between domestic and wild sheep. Most regions were located on chromosomes 13 and 7 had 14 and 9 gene regions, respectively. Examination of the relationship between QTLs and important genes in selected areas showed that 95 genes related to economic traits were identified. QTLs with important economic characteristics including quality and quantity of meat, milk, fat, bone, immune system and parasite resistance were reported. Most QTLs were located on chromosomes 2, 3, 5, 6, and 7, indicating that the most positive mutations occurred on these chromosomes. Most of the identified biological pathways related to ion channels through cell membranes are neuromuscular processes, Brain and cerebellum growth, metencephalon growth, membrane ion membrane transport, and pathways involved in regulating ion transport in cell membranes. Genes identified in different genomic regions can be considered as selective candidates. A number of genes studied as selection signatures reported were consistent with previous studies. Important genes were included: GABRB1, GRM3, HERC1, HERC3 and KCND2.

Conclusion: The study of genomic regions showed that these regions are directly and indirectly related to the quality and quantity of meat, milk, fat, bone, immune system and parasite resistance. Identifying important economic traits and locating parts of the genome that have changed as a result of selection could be used in sheep breeding programs. However, in this research we had limitations such as the incompleteness of information related to functional annotation of genes in sheep species and also the small sample size of this study. Therefore, in subsequent studies with more samples and more breeds of domestic and wild sheep in Iran, a better understanding of candidate genes for important economic traits in domestic and wild species would be achieved.

Keywords: Domestic sheep, Economic traits, Ontology, Selection signature, Wild sheep

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۲، ص. ۵۸۴-۵۷۰

بررسی ردپای انتخاب و هستی‌شناسی ژن در برخی نژادهای گوسفند اهلی و وحشی ایران

مجید بی‌غم[۱]، محمد رضا نصیری[۲*]، مهیار حیدرپور[۳]، علی جوادمنش[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۶

چکیده

در طی سالیان طولانی، حیوانات در معرض عوامل مختلفی مانند انتخاب طبیعی، رانش ژنتیکی و جهش‌های متعدد قرار گرفته‌اند، بنابراین چنین عواملی سبب تغییرات در بین و داخل گونه‌ها شده است. از سویی دیگر امروزه نیاز به افزایش تولید سبب کاهش تنوع ژنتیکی گونه‌ها بوده که نگرانی‌های شدیدی را برای سیستم تولیدی حیوانات در سراسر جهان به‌وجود آورده است. هدف از انجام این تحقیق، شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب در گوسفندان اهلی در مقایسه با گوسفندان وحشی ایران و بررسی هستی‌شناسی ژن‌های کاندید مرتبط با صفات اقتصادی می‌باشد. در این تحقیق، داده‌های دو گروه گوسفند اهلی (۱۰۶ راس) و وحشی (۸ راس) بومی ایران بعد از ویرایش و کنترل کیفیت با نرم‌افزارهای R و Plink مورد آنالیز قرار گرفتند و نتایج حاصل با استفاده از سرورهای آنلاین DAVID، GeneCards و UniProtKB تفسیر شدند. نتایج نهایی نشان دادند، ۹۵ منطقه ژنومی روی ۲۳ کروموزوم در گوسفند وحشی و اهلی با هم اختلاف داشتند و بیشترین اختلاف روی کروموزوم‌های ۱۳ و ۷ بوده که به ترتیب با ژن‌های ۱۴ و ۹ مرتبط می‌باشند. بررسی مناطق ژنومی دارای اختلاف در دو نژاد نشان دادند که این مناطق با صفات کیفیت و کمیت گوشت، شیر، چربی، استخوان (با فراوانی بالاتر در گونه اهلی) و سیستم ایمنی و مقاومت به انگل (با فراوانی بالاتر در گونه اهلی) مرتبط می‌باشند. برخی از ژن‌های مهم شناسایی شده، شامل GABRB1، GRM3، HERC1، HERC3 و KCND2 بودند. در بررسی هستی‌شناسی ژن‌ها، مسیرهای زیستی شناسایی شده مربوط به کانال‌های عبور یون‌ها از غشای سلولی، فرآیندهای تحریک عصبی عضلات، رشد مغز و مخچه، انتقال غشایی یون‌های غیر آلی بود. مشخص نمودن صفات مهم اقتصادی و مکان‌یابی بخش‌هایی از ژنوم که در اثر انتخاب تغییر پیدا کرده‌اند، می‌تواند در برنامه‌های اصلاح نژادی گوسفند در کشور مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: صفات اقتصادی، گوسفند اهلی، گوسفند وحشی، نشانه انتخاب، هستی‌شناسی

مقدمه

جهش‌های ژنتیکی که در جمعیت‌های حیوانات اهلی رخ می دهند، باعث ایجاد شایستگی‌هایی در حیوانات حامل آن‌ها شده و در نتیجه، این حیوانات نتاج بیشتری خواهند داشت. این جهش‌ها در نتاج آن‌ها نیز تکرار می‌شود. این نوع از جهش‌ها به احتمال زیاد در بین جمعیت در طی نسل‌های متمادی پراکنده شده و امروزه در ژنوم حیوانات دیده می‌شود. بنابراین، پیدا کردن مواردی که در آن‌ها آلل خاص و مفیدی از یک جایگاه ژنی به‌طور سریع و وسیع در جمعیت(ها) پراکنده شده و باعث کاهش تنوع در جایگاه ژنی مورد نظر شده‌است، موضوع مورد علاقه متخصصان اصلاح دام می‌باشد (Oldenbroek, 2007).

در صورتی که انتخاب طبیعی یا مصنوعی برای صفتی خاص به نفع ناحیه‌ای از ژنوم صورت گیرد، این امکان وجود دارد که در طول زمان فراوانی سایر چندشکلی‌ها کاهش یافته یا ناپدید شده باشند. در نتیجه، یک هاپلوتایپ خاص که ممکن است حاوی

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۲- استاد گروه علوم دامی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.
۳- محقق دانشگاه علوم پزشکی هاروارد، دپارتمان پزشکی، شهر بوستون، ایالت ماساچوست، ، آمریکا.
۴- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران..
(*- نویسنده مسئول: (Email: nassiryr@um.ac.ir
https://doi.org/10.22067/ijasr.2023.79931.1112

چندین ژن باشد، می‌تواند تنها هاپلوتایپ یا مهم‌ترین هاپلوتایپ موجود در جمعیت باشد که به آن نشانه انتخاب[1] یا رانش ناشی از انتخاب[2] می‌گویند (Forough Ameri *et al.*, 2015). به عبارت دیگر، چنانچه یک جهش جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به سایر افراد جامعه شود، انتخاب باعث می‌شود، افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند در تشکیل نسل بعد شانس مشارکت بیشتری داشته باشند. بدین ترتیب، فراوانی واریانت جهش یافته، بسته به سهم آن در افزایش شایستگی به‌سرعت شروع به افزایش خواهد کرد (Sabeti *et al.*, 2007). هنگامی که انتخاب مثبت به‌سمت افزایش فراوانی آلل مطلوب پیش می‌رود، جایگاه‌های خنثی نزدیک به این جایگاه به‌علت پیوسته بودن با آلل مطلوب، تحت تأثیر قرار می‌گیرد که در نتیجه، الگوی تنوع ژنتیکی و عدم تعادل فاز گامتی در جایگاه‌های اطراف این جهش انتخابی تغییر خواهد کرد.

افزایش فراوانی جهش‌های به‌وجود آمده به علت پدیده انتخاب که فقط در برخی از جوامع مفید هستند، سبب به‌وجود آمدن نشانه‌هایی در سطح ژنوم موجودات می‌شود. شناسایی این نشانه‌ها به وسیله بررسی فراوانی آللی، توسعه ساختار هاپلوتیپی، کاهش تنوع ژنتیکی در آن منطقه و افزایش الگوی عدم تعادل پیوستگی ژنی امکان‌پذیراست (Qanbari *et al.*, 2014). نشانه‌های انتخاب یکی از مؤثرترین تکنیک‌ها جهت شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات کمّی در حوزه‌های مختلف ژنتیک از جمله ژنتیک حیوانی شده است، زیرا این مناطق اغلب با جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات مهم اقتصادی، در ارتباط هستند.

به تغییر الگوی تنوع ژنتیکی و LD در جایگاه‌های مرتبط با یک جهش سودمند در طی انتخاب مثبت، رانش ناشی از انتخاب می‌گویند. شناسایی این مناطق ژنومی با توجه به اینکه عمدتاً با ژن‌های عمده اثر و صفات مهم اقتصادی همراه هستند، دارای اهمیت زیادی می‌باشد و می‌توانند منابع اطلاعاتی مناسبی برای اجرای تحقیقات بعدی فراهم آورند. یکی از مزایای اصلی این روش‌ها امکان اجرای آن‌ها با استفاده از اطلاعات مولکولی در غیاب رکوردهای فنوتیپی می‌باشد (Akey, 2009).

شناسایی نشانه‌های انتخاب از دو جهت مهم می‌باشند. اول اینکه این نشانه‌ها اطلاعات ارزشمندی در خصوص تکامل و مکانیسم‌های مؤثر بر تکامل را فراهم می‌کنند. دوم اینکه جایگاه‌های ژنی مرتبط شناخته شده و تنوع ژنتیکی صفات کمی آشکار می‌شود. از طرفی دیگر، اهلی‌سازی و انتخاب به‌شدت در ویژگی‌های ظاهری و رفتاری حیوانات اهلی امروزی تغییر ایجاد کرده‌است. در این مسیر، انتخاب های انجام شده توسط انسان نشانه‌های قابل شناسایی را در ژنوم گوسفندان امروزی به‌جا گذاشته که آشکارسازی این نشانه‌ها می‌تواند به اصلاح و بهبود ژنتیکی صفات مهم اقتصادی در این دام کمک کند (Moradi *et al.*, 2012).

یکی از روش‌های درک بهتر فرآیندهای فیزیولوژیکی، بررسی شبکه‌های تنظیم ژنی و مسیرهای زیستی می‌باشد. شناسایی ژن‌های دخیل در صفات اقتصادی به‌عنوان مارکرهای مولکولی در اصلاح نژاد اهمیت ویژه‌ای دارد. شبکه‌های تنظیم ژنی و مسیرهای زیستی به محقق این امکان را می‌دهد تا مطالعه همه ژن‌ها درکنار یکدیگر انجام گردد (Zeraatpisheh *et al.*, 2022). با استفاده از این شبکه می‌توان اثرات متقابل بین ژن‌ها و اثرات متقابل احتمالی که بین پروتئین‌ها وجود دارد را مورد بحث قرار داد (Mohammadi *et al.*, 2020). علاوه‌براین، از شبکه‌های تنظیم ژنی و مسیرهای زیستی می‌توان جهت یافتن بیومارکرهایی برای شناسایی، تشخیص و تخمین اهداف بیولوژیکی نیز بهره برد (Roshandel Ghalezo *et al.*, 2022). این شبکه‌ها ساختار اثرات متقابل مارکرها را نیز در نظر می‌گیرند که موجب می‌شود، بررسی مارکرها در شبکه نسبت به بررسی مارکرها به‌صورت منفرد، بسیار کارآمدتر باشد. نتایج این مرحله، مسیرهای ژنی و فرآیندهای بیولوژیکی را که ژن‌های شبکه می‌توانند تحت تأثیر قرار دهد و در کنترل آن‌ها مؤثر باشد، نشان می‌دهد (Bakhshalizadeh *et al.*, 2021).

اولین بار شاخص F_{ST} برای بررسی سطح تمایز بین زیرجمعیت‌ها و شناسایی نشانه‌های انتخاب پیشنهاد شد. یک راه تفسیر افزایش شاخص تثبیت، کاهش هتروزیگوسیتی در میان جمعیت‌ها نسبت به حالت طبیعی مورد انتظار می‌باشد. تحت شرایط خنثی، میزان شاخص تثبیت به‌وسیله رانش ژنتیکی و مهاجرت تعیین می‌شود، امّا سازگاری منطقه‌ای می‌تواند میزان تمایز جمعیت‌ها را در لوکوس‌های خاص شتاب دهد و منجر به مقادیر بالاتری از شاخص تثبیت شود (Sabeti *et al.*, 2002; Forough Ameri *et al.*, 2015). F_{ST} یک روش ارزیابی تفرق جمعیتی بر پایه داده‌های چندشکلی ژنتیکی می‌باشد. ارزش F_{ST} از لحاظ تئوری می‌تواند بین ۰ (بدون تفاوت) تا ۱ (تفاوت کامل، که هر جمعیت برای آلل متفاوتی تثبیت شده‌اند) متغیر باشد. در تئوری خنثی، F_{ST} توسط رانش ژنتیکی مشخص می‌شود و تمام جایگاه‌ها به‌صورت مشابهی تحت تأثیر قرار می‌گیرند، درحالی‌که انتخاب منجر به انحراف در ارزش‌های F_{ST} ژن‌های انتخابی و جایگاه‌های اطراف آن می‌شود.

مهم‌ترین آزمون‌های آماری مبتنی بر تمایز جمعیتی، آماره F_{ST} است که به شناسایی جایگاه‌های متمایز تحت انتخاب مثبت که برای صفات اقتصادی اهمیت ویژه‌ای دارند، می‌پردازد (Akey, 2009).

تاکنون پژوهش‌های اندکی در رابطه با خصوصیات ژنتیکی گوسفندان وحشی ایران و همچنین تفاوت‌های ژنتیکی آن‌ها با

1- Selection signatures
2- Selective sweep

گوسفند اهلی صورت گرفته است، در تحقیقات قبلی تا مرحله شناسایی SNPهای داری تفاوت کار شده است، ولی در این مطالعه، سعی شد این نقاط دارای اختلاف را تا مرحله ژن‌ها و صفات مرتبط با SNP و هستی‌شناسی ژن ادامه دهیم. هدف از انجام این تحقیق، شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب و ژن‌های کاندید مرتبط با صفات اقتصادی گوسفند اهلی و وحشی ایران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

داده‌های SNPchip50k مورد نیاز این تحقیق از دو پایگاه داده (https://www.sheephapmap.org/) HAPMAPو Nextgen (https://projects.ensembl.org/nextgen) با فرمت های PED وMAP دانلود شد. نژادها شامل نژادهای افشاری (۴۱ راس)، قزل (۳۵ راس)، مغانی (۳۵ راس) و نیز ۸ راس گوسفند وحشی بودند. در ایران، دو گونه گوسفند وحشی وجود دارد. گوسفندهای وحشی اوریال و ارمنی، که در مطالعات قبلی به‌عنوان زیرگونه در نظر گرفته شده بودند در رده‌بندی جدید در دو گونه متفاوت گوسفند وحشی اوریال و ارمنی قرار گرفتند (Kaveh Pishghadam *et al.*, 2017). گوسفندان وحشی مورد استفاده در این تحقیق از گونه ارمنی منطقه شمال غرب ایران نمونه‌گیری شده‌اند.

جهت کنترل کیفیت و ویرایش داده‌های خام، نمونه‌هایی که فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ آن‌ها کمتر از ۹۰ درصد بود، به‌دلیل خطای بالا در تعیین ژنوتیپ، شناسایی و حذف شدند. در مرحله بعد، نشانگرهایی که حداقل فراوانی آللی در آن‌ها کمتر از پنج درصد بود، حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ ژنوتیپ شده آن‌ها در نمونه‌ها کمتر از ۹۹ درصد بود، شناسایی و حذف شدند. در نهایت، برایSNPهای باقی‌مانده، آن‌هایی که در تعادل هاردی–واینبرگ نبود، به‌عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ کنار گذاشته شدند. سطح احتمال برای تعادل هاردی– واینبرگ برابر با 10^{-6} نظر گرفته شد که با استفاده از تصحیح بنفرونی به‌دست آمد (Moradi *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015).

مراحل مختلف کنترل کیفیت با استفاده از نرم‌افزار (PLINK v1.9) انجام شد. برای شناسایی مناطقی از ژنوم گوسفندان اهلی و وحشی که هدف انتخاب‌های مختلف قرار گرفتند، توزیع ژنومیکF_{ST} برای تمام SNPها بر روی ژنوم به‌صورت گراف منهتن رسم شد (Moradi *et al.*, 2012).

صرف نظر کردن از خطای نمونه‌گیری یکی از مشکلات اصلی F_{ST} به روش رایت بوده و چنین مشکل توسط ویر و کوکرهام تصحیح گردیده است Weir and Cockerham, (1984). این افراد روش تخمین‌گر نااُریب F_{ST} با نام تتا (θ) را ارائه کردند که به‌طور مستقل از تعداد گروه‌های نمونه‌گیری شده و تعداد افراد داخل هر گروه عمل می‌کند.

$$F_{ST}= HT - HS/ HT \quad (۱)$$

در معادله فوق، HT و HS: به‌ترتیب میزان کل هتروزیگوسیتی و میانگین هتروزیگوسیتی در زیر جمعیت‌ها می‌باشد. برای شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم به‌جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP از میانگین ارزش‌های عددی SNPهای مجاور با طول 5 SNP تحت عنوان ارزش Win5 استفاده می‌شود، یک درصد از مناطقی از ژنگان که در این تحقیق تنها در آن همه نشانگرهای مجاور ارزش بالایی داشتند، به‌عنوان نشانه‌های انتخاب شناسایی و تعیین شدند.

در این تحقیق به‌دلیل استفاده از دو دسته داده، مراحل کنترل کیفیت برای هر دسته جداگانه انجام شد و سپس داده‌ها با هم ادغام شدند و مجدد کنترل کیفیت شدند، تا نشانگرهایی که هم‌خوانی ندارند، حذف شوند. دلیل دیگر ادغام، این است که هر جمعیت ممکن است تعدادی نشانگر اختصاصی داشته باشد و عدم هم‌خوانی نشانگرها در دو جمعیت باعث از دست رفتن افراد شود. در مرحله ادغام، گروه اهلی بر اساس گروه وحشی که دارای تراشه قدیمی‌تر بود، به‌روز رسانی شدند (جدول ۱).

برای داشتن دیدگاهی کلی در زمینه ساختار جمعیتی دو گروه مورد بررسی و شناسایی حیواناتی که خارج از گروه خود قرار گرفته‌اند، تجزیه مؤلفه‌های اصلی در محیط R i386 3.6.2 انجام شد. همچنین، بررسی شبکه‌های ژنی توسط نرم‌افزار Cytoscape، نسخه 3.8.2 انجام شد.

مطالعه QTLsها و ژن‌های مورد نظر

در این مطالعه، برای شناسایی مناطق متأثر از انتخاب مثبت در کل ژنوم برای گونه‌های گوسفند اهلی و وحشی آماره F_{ST} در محیط نرم‌افزار R x64 4.0.4 محاسبه شد (Taheri *et al.*, 2020). توزیع ژنومیک F_{ST} به‌روش win5 برای تمام SNPها بر روی ژنوم انجام شد (Moradi *et al.*, 2012). بررسی ژن‌های شناسایی شده با استفاده از SNPهایی که در بازه یک درصد بالاییF_{ST} قرار داشتند، توسط نرم‌افزار Plink v1.9 شناسایی شدند.

جهت انتساب SNPها به ژن‌ها،SNPهایی که در بازه یک درصد بالایی F_{ST} قرار داشتند، با استفاده از بسته نرم‌افزاری biomaRt() در محیط R و با استفاده از نسخه ژنوم گوسفند Oar_v4.0 به ژن‌هایی که SNP مورد نظر در داخل آن ژن یا در فاصله ۳۰۰ Kb بالادست یا پایین دست آن ژن قرار داشت، نسبت داده شدند (Durinck *et al.*, 2009; Qanbari *et al.*, 2012). ژن‌هایی که حداقل حاوی یکSNP باشند، ژن معنی‌دار به حساب می‌آیند. بخش‌هایی از ژنوم که دارای F_{ST} بالایی هستند، نشان‌دهنده تمایز بین دو گونه اهلی و وحشی می‌باشند که بر اثر انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در طی

نسل‌های قبل به‌وجود آمده است.

جدول ۱- مراحل کنترل کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ شده گوسفندان اهلی و وحشی ایران

Table 1- Steps of quality control of genotyped data of Iranian domestic and wild sheep

مورد Item	حیوانات اهلی Domestic animals	حیوانات وحشی Wild animals	حیوانات ادغام شده Merged animals
تعداد حیوانات Number of animals	106	8	114
تعداد نشانگرها قبل از کنترل کیفیت Number of markers before quality control	44320	53074	38924
تعداد SNPها با فراوانی آلل نادر < ۰/۰۵ The number of SNPs with rare allele frequency < 0.05	84	10413	0
تعداد SNPهای با $P<6.8\times10^{-6}$ Number of SNPs with 6-10×P<6.8	392	0	62
تعداد SNPها با نرخ ژنوتیپ گم شده > ۰/۰۱ Number of SNPs with missing genotype rate > 0.01	4356	3737	12583
تعداد SNPها بعد از کنترل کیفیت Number of SNPs after quality control	39488	38924	26279
نرخ ژنوتیپ Genotyping rate	0.945316	0.05734	0.902869

در این مرحله، ابتدا به‌کمک مختصات نشانگرها، نقشه‌یابی QTL انجام گردید. سپس به‌کمک نشانگرها، نقشه‌یابی ژنی انجام شد که هر دو مرحله فوق توسط نرم‌افزار plink صورت گرفت. علاوه‌براین، از پایگاه DAVID برای تعیین مسیرهای زیستی استفاده گردید. در این مرحله، فرض بر این است که ژن‌هایی که در یک طبقه عملکردی قرار می‌گیرند، می‌توانند به‌عنوان یک گروه از ژن‌هایی که برخی از ویژگی‌های خاص و مشترک دارند، در نظرگرفته شوند. همچنین برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست‌آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی GeneCards (http://www.genecards.org) و UniProtKB (http://www.uniprot.org) استفاده شد.

نتایج و بحث

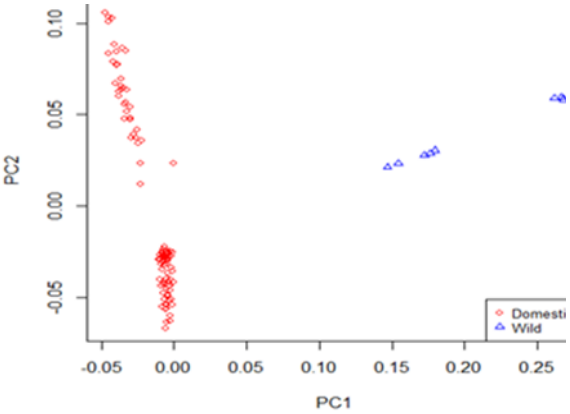
پس از مراحل ویرایش داده‌ها، در نهایت ۳۴۵۵۶ نشانگر SNP مربوط به ۱۱۴ حیوان (۱۰۶ نمونه اهلی، هشت نمونه وحشی) برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی انتخاب شدند. مراحل مختلف ویرایش داده‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

در این تحقیق، ساختار جمعیتی نژادهای گوسفند وحشی و اهلی بررسی و مقایسه شد. برای بررسی نحوه قرار گرفتن حیوانات در گروه‌های نژادی، تجزیه و تحلیل PCA با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی نمونه‌ها انجام شد. نتایج نشان داد که حیوانات با استفاده از این دو مؤلفه در دو گروه جداگانه قرار گرفتند و در هیچ نقطه‌ای هم پوشانی نداشتند (شکل ۱).

در این پژوهش، برای شناسایی بهتر مناطق ژنگانی تحت انتخاب در کل ژنگان، نگاره منهتن ترسیم شد. در این نگاره، بخش‌های با ارزش F_{ST}، نشان‌دهنده تمایز نژادهای اهلی و وحشی در اثر انتخاب مثبت در آن مناطق ژنگانی بودند که به دنبال انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی در طی نسل‌های مختلف برای جایگاه‌های مورد نظر به‌وجود آمده است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که در چندین منطقه ژنگانیSNPهای مجاور تفرق جمعیتی بالایی داشتند. در شکل ۲، توزیع ارزش‌های Win5تتا در سطح ژنگان نژاد اهلی و وحشی آورده شده است که در آن موقعیت ژنگانی SNPها روی محور X و ارزش تتا آن‌ها روی محورY نمایش داده شده است.

همچنین برای بررسی تفرق جمعیتی نژادهای اهلی و وحشی ایرانی از برآوردگر نااریب F_{ST} به‌روش ویر و کوکرهام با نام ضریب تتا نیز استفاده شد که نتایج حاصل دارای همبستگی بالایی (r^2 =0.9997) با نتایج روش F_{ST} رایت بودند (شکل ۳). از همبستگی بالای این دو آماره در این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که جمعیت های مورد مقایسه از نظر اندازه جمعیت تفاوتی با هم ندارند و F_{ST}محاسبه شده از دقت قابل قبولی برخوردار بود.

از تعداد ۲۶۲۷۹ SNP باقی‌مانده یک در صد بالایی SNPها (۲۶۰ SNP) که شاخص تثبیت F_{ST} آن‌ها بالاتر بودند، انتخاب شدند. میزان F_{ST} در SNPهای منتخب بین۰/۳۰۴ تا ۰/۴۷۲ بود.

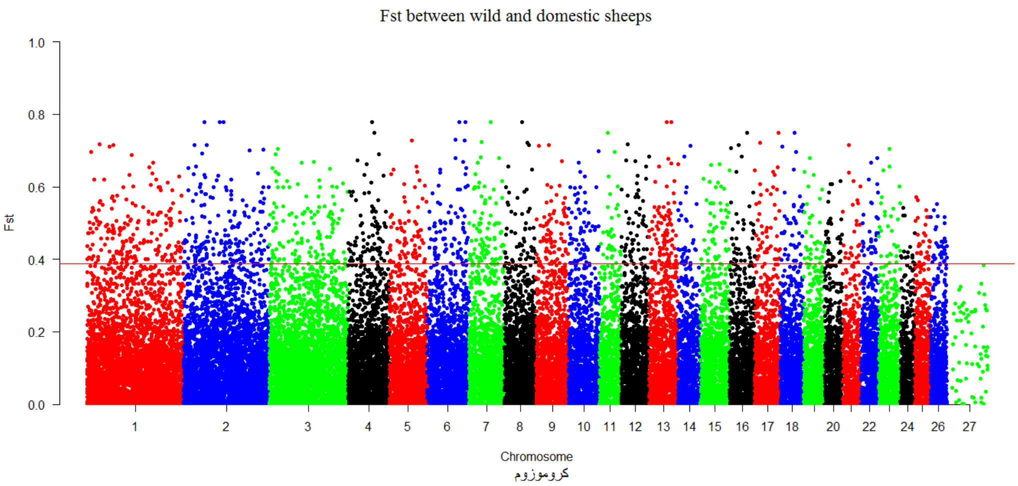


شکل ۱– خوشه‌بندی حیوانات بر پایه تجزیه وتحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) با استفاده از داده‌های SNPکل ژنگان

Figure 1- Animal clustering based on principal component analysis (PCA) using whole genome SNP data

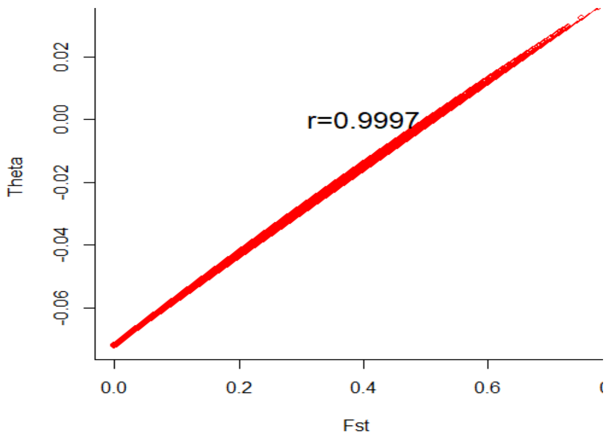
گوسفندان وحشی با رنگ آبی و گوسفندان اهلی با رنگ قرمز مشخص شدند.

Wild and domestic sheep individuals were shown in blue and red, respectively.



شکل ۲– توزیع ارزش‌های Win5تتا در کروموزوم‌های گوسفندان اهلی و وحشی

Figure 2- Distribution of Win5theta values at the chromosomes of domestic and wild breeds



شکل ۳– مقایسه ضرایب FST به‌روش رایت و ضرایب ناریب تتا به‌روش ویر و کوکرهام در تمام SNPهای ژنوتیپ شده در حیوانات اهلی و وحشی

Figure 3- Comparison of FST coefficients by Wright's method and unbiased theta coefficients by Weir and Cockerham's method in all genotyped SNPs in domestic and wild animals

جدول ۲- دسته‌بندی QTLها ی شناسایی شده در این مطالعه و تعداد تکرار آن‌ها

Table 2- Classification of QTLs identified in this study and their number of repetitions

QTL جایگاه صفت کمّی	نام کامل Full name	تعداد تکرار The number of repetitions	QTL	نام کامل Full name	تعداد تکرار The number of repetitions
	تراکم استخوانی Bone density QTL	4		عملکرد پروتین شیر Milk protein yield {180d} QTL	24
	ناحیه استخوانی Bone area QTL	2		درصد پروتین شیر Milk protein percentage QTL	11
استخوان Bone	مجموع استخوان Total bone QTL (95786)	1		درصد چربی شیر Milk fat percentage QTL	9
	تراکم ماهیچه Muscle density QTL (95863)	1		عملکرد شیر Milk Yield {180d} QTL	58
	تراکم چربی Fat density QTL (95832)	1		میزان چربی شیر Milk fat yield	90
	وزن چربی در لاشه Fat weight in carcass QTL (95821)	1	شیر Milk	بار میکروبی شیر Milk bacterial count QTL (138645)	5
	صفات مربوط به صدای هنگام مبارزه Vocalization during arena test QTL (146906)	1		درصد لاکتوز شیر Milk lactose percentage QTL (181706)	1
کپل Breech	صفات مربوط صدا Vocalization behavior QTL (146868)	1		تعداد سلولهای سوماتیک شیر somatic cell count	3
	صفات مرتبط با شکل زایش Breech Traits QTL (146980)			وزن بدن در ۲۰ هفتگی Body weight (20 weeks) QTL (193069)	1
لاشه Carcass	نسبت ماهیچه به استخوان Muscle-to-bone ratio QTL (95867)	1		زمان انعقاد مایه پنیر Rennet coagulation time QTL (213379)	1
	تراکم چربی Fat density QTL	3		زمان سفت شدن کشک Curd firming time QTL (213380)	2
	مجموع استخوان Total bone QTL	2		مجموع استخوان Total bone QTL	7
چربی Fat	ناحیه استخوانی Bone area QTL	2		تراکم ماهیچه Muscle density QTL	6
	وزن چربی در لاشه Fat weight in carcass QTL (95819)	1	ماهیچه Muscle	درصد استخوان‌های لاشه Carcass bone percentage QTL	2
	مجموع ناحیه چربی Total fat area QTL (95837)	2		نسبت ماهیچه به استخوان muscle-to-bone ratio QTL (95867)	1
	تراکم ماهیچه Muscle density QTL (95862)	1		وزن چربی در لاشه fat weight in carcass QTL (95820)	1

Continue the table۲ ادامه جدول ۲

مدفوع Fecal	تعداد تخم در مدفوع Fecal egg count QTL (213234)	26		ناحیه استخوانی Bone area QTL (95797)	1
ایمونوگلوبین Immunoglobulin	سطح ایمونوگلوبین آ Immunoglobulin A level QTL (95629)	3		مجموع ناحیه چربی Total fat area QTL	3
حرکت Locomotion	تحرک در هنگام مبارزه Locomotion during arena test QTL (146941)	2		تراکم چربی Fat density QTL (95850)	1
گوشت Meat	شاخص تردی گوشت Shear force QTL (212019)	1	دم Tail	میزان تجمع چربی در دم Tail fat deposition QTL (126989)	1
	رنگ گوشت Meat color [a]* QTL (212020)	1		مجموع ناحیه چربی Total fat area QTL	9
	محتوای اسید لینولئیک مزدوج گوشت Meat conjugated linoleic acid content QTL (160570)	1		مجموع برههای متولد شده Total lambs born QTL	16
	محتوای اسید چرب امگا-۳ گوشت Meat omega-3 fatty acid content QTL (213275)	3	کل Total	مجموع استخوان Total bone QTL	7
	محتوای اسید چرب اشباع گوشت Meat saturated fatty acid content QTL (160552)	1		Total fat area QTL مجموع ناحیه چربی	9
	محتوای اسید پالمتولئیک گوشت Meat palmitoleic acid content QTL (160560)	2		ناحیه استخوانی Bone area QTL	7
	محتوای اسید چرب غیراشباع یگانه گوشت Meat monounsaturated fatty acid content QTL (160562)	2		درصد چربی شیر Milk fat yield {180d} QTL (169319)	1
	نسبت اسید چرب امگا ۳ به امگا ۶ در گوشت Meat omega-6 to omega-3 fatty acid ratio QTL (160579)	2		صفات مربوط به صدا در هنگام مبارزه Vocalization during arena test QTL	4
	محتوای اسید میریستیک در گوشت Meat myristic acid content QTL (160545)	2		Breech Traits QTL صفات مرتبط با شکل زایش	2
				صفات مربوط به صدای هنگام مبارزه Vocalization during corridor test QTL (140523)	2
				صفات مربوط به صدا Vocalization behavior QTL (146868)	1

SNPهای انتخابی بعد از انتساب به ژن‌های مربوطه، شامل ۹۵ منطقه ژنومی بودند که روی ۲۳ کروموزوم در دو گونه اهلی و وحشی گوسفند قرار داشتند. بیشترین مناطق روی کروموزوم‌های ۱۳ و ۷ به ترتیب با ۱۴ و ۹ ژن قرار داشتند. به‌طور کلی، به‌دلیل مدت طولانی اهلی شدن و مشتق شدن دو نژاد اهلی و وحشی گوسفند ایران که بیش از ۱۱۰۰۰ سال می‌باشد (Alvarez *et al*., 2020) جهش‌های مثبت صورت گرفته در ژنوم فرصت به وقوع پیوستن در کل ژنوم تقریباً به‌صورت یکنواخت را داشته‌اند. این عامل اصلی اختلاف فنوتیپی و ژنوتیپی بین دو نژاد شده است. تعداد ۲۱۹ SNP با اختلاف فراوانی بالا بین دو جمعیت هم شناسایی شد که با QTL مشخصی مرتبط نبودند که ممکن است مهم باشند و در تحقیقات آینده QTLهایی برای آن‌ها شناسایی شود.

در بررسی QTLهای شناسایی شده به‌کمک مختصات نشانگرها با F_{ST} بالا، ۹۵ ژن مرتبط با صفات اقتصادی شناسایی شد. QTLهای شناسایی شده در مناطق ژنومی مورد نظر در گوسفند بر روی ۱۹ کروموزوم با صفات مهم اقتصادی از جمله کیفیت و کمیت گوشت، شیر، چربی، استخوان، سیستم ایمنی و مقاومت به انگل مرتبط بودند که در جدول ۲ بر اساس صفات مربوطه و تعداد تکرار دسته‌بندی شده اند. بیشترین QTLها بر روی کروموزوم‌های۲، ۳، ۵، ۶ و۷ قرار داشتند که نشان می‌دهد، بیشترین جهش‌های مثبت بر روی این کروموزم‌ها صورت گرفته است. همچنین بیشترین تکرار QTLها مربوط به صفات چربی شیر با ۹۰ بار، میزان تولید شیر ۵۸ بار، تعداد تخم انگل در مدفوع ۲۶ بار، پروتین شیر ۲۴ بار و صفت مجموع بره‌های متولد شده برای هر میش با ۱۶ بار تکرار بود که نشان‌دهنده اهمیت اقتصادی این صفات و اختلاف بالای این صفات بین دو نژاد اهلی و وحشی می‌باشد. دلیل دیگر تکرار زیاد این صفات، مطالعه و شناسایی بیشتر QTLها در رابطه با این صفات با توجه به اهمیت اقتصادی آن‌ها می‌باشد.

ژن‌های شناسایی شده در نواحی مختلف ژنومی می‌توانند به‌عنوان کاندیداهای تحت انتخاب مطرح شوند. شماری از ژن‌های مورد بررسی به‌عنوان نشانه‌های انتخاب، با بررسی‌های پیشین هم‌خوانی داشت. محمدی و همکاران ژن AKAP6 را در گوسفند نژاد زندی مرتبط با صفت وزن نه ماهگی شناسایی کرده بودند. همچنین ارتباط این ژن در توسعه بافت ماهیچه‌های اسکلتی و نقل و انتقالات یون کلسیم تشخیص داده شده است (Mohammadi *et al*., 2020).

گوموندسدوتیر در بررسی صفات مرتبط با عضله در گوسفند ایسلندی دو ژن AKAP6 و GRID2 را مرتبط دانست (Guomundsdottir, 2015). پروتئین کدگذاری شده توسط GRID2 عضوی از گیرنده‌های گلوتامات یونوتروپیک بوده که مرتبط با گیرنده‌های انتقال‌دهنده عصبی تحریکی غالب در مغز پستانداران می‌باشند. دنگ و همکاران ژن CHD2 را مرتبط با کیفیت باروری اسپرم تشخیص دادند (Deng *et al*., 2018). لیو و همکاران در بررسی جمعیتی از گوسفند ژن EBF4 را مرتبط با رنگ بدن گزارش کردند (Liu *et al*., 2015). ژن‌های EIF4G3 و FAM13A در مسیر سنتز پروتین شیر حیاتی تشخیص داده شده‌اند (Suárez-Vega *et al*., 2016).

نتایج بررسی ژن‌های گوسفند و بز نشان داده است که ژن‌های GABRB1 و KCND2 با مسیرهای زیستی مرتبط بوده و در پاسخ به درد فعالیت دارند (Taheri *et al*., 2020; Deng *et al*., 2018). همچنین وینر و همکاران در بررسی جمعیتی از گوسفندان اتیوپی، ژنGABRB1 را یکی از ژن‌های کاندید برای سازگاری به شرایط محیطی گزارش کرد (Wiener *et al*., 2021). با توجه به شرایط نامساعد جوی محل زندگی نژادهای این تحقیق همانند اتیوپی به نظر می‌رسد برای این ژن هم انتخاب طبیعی صورت گرفته است.

گروهی از محققان در مطالعات مجزا بر روی گاوهای چینی، ژن GLRB را مرتبط با سیستم عصبی و پاسخ به محرک‌ها تشخیص دادند (Dong *et al*., 2014; Yang *et al*., 2017). در مطالعه لی و همکاران، نشانه‌های انتخاب خوک تبتی دریافتند که ژن GNA14 توسط هیپوکسی ایجاد می‌شود و نقش مهمی در جفت دارد و عملکرد اندوتلیال عروقی جنین تحت هیپوکسی مزمن به‌دلیل عملکرد این ژن است. لی و همکاران در تحقیقی بر روی کل ژنوم گوسفند اهلی و وحشی دریافتند که ژن GRM3 و MACROD2 در سرطان پستان و همچنین تعداد شاخ مؤثر است (Li *et al*., 2020).

ونگ و همکاران در مطالعه پاسخ‌های ژنومی به انتخاب رفتارهای روباه نقره‌ای رام و وحشی (Vulpes vulpes) دریافتند، فراوانی جهش ژن GRM3 در روباه رام تغییر قابل محسوسی پیدا کرده است (Wang *et al*., 2015). با توجه به اینکه این ژن در تحقیق انجام شده ما هم بین گوسفند اهلی و وحشی با هم اختلاف دارند، می‌توان نتیجه گرفت که ژن GRM3 یک ژن کاندید احتمالی در فرآیند اهلی سازی است.

گوناوان و همکاران (Gunawan *et al*., 2021) در تجزیه و تحلیل ترانس کریپتوم ژن‌های کبدی گوسفند نشان دادند که ژن GSTCD یکی از ژن‌های مهم دخیل در بیوسنتز چربی، چربی‌زایی، رسوب چربی و متابولیسم لیپید است. همچنین سرانیتو و همکاران در بررسی نشانه‌های انتخاب گوسفند و بز مدیترانه‌ای ژن GSTCD را در بز تحت انتخاب معرفی کرد (Serranito *et al*., 2021).

آلوارز و همکاران در تحقیقی بر روی گوسفند دجالونکی[1] غرب آفریقا در مورد تأثیر ژنومی سازگاری دام با محیط زیست ژن HERC1 را در این رابطه معنی‌دار توصیف کردند (Álvarez *et al*., 2020). این ژن نیز می‌تواند یک ژن کاندید احتمالی در فرآیند

1- Djallonké

اهلی‌سازی باشد. چن و همکاران در تجزیه و تحلیل توالی کل ژنوم تعدادی گوسفند بامنشأ موفلون اروپایی و آسیایی و بررسی ژن‌های مربوط به اهلی‌سازی در گوسفند، ژن HERC3 را یکی از ژن‌های مؤثر درپاسخ به ایمنی معرفی کردند (Chen *et al*., 2021). همچنین الکلالده و همکاران در مطالعه‌ای برای تشخیص نواحی ژنومی مقاومت در برابر انگل‌های دستگاه گوارش در گوسفند استرالیایی، ژن HERC3 را مؤثر در سیستم ایمنی شناسایی کردند (Al Kalaldeh *et al*., 2019).

جیائو و همکاران ژن IP6K1 در گوسفند را درگیر در مسیر تولید گرما در حیوانات در معرض سرما گزارش کردند (Jiao *et al*., 2021). دوارته و همکاران، ژن JPH1 در خوک را مرتبط با مسیرهای مربوط به تنظیم متابولیسم بافت چربی و رشد عضلات اسکلتی گزارش کردند (Duarte *et al*., 2017). تاو و همکاران در مطالعه‌ای برای شناسایی ژن‌های مرتبط با وزن تولد، ژن KCND2 را ژن کاندید معرفی کرد، آن‌ها همچنین برای شناسایی ژن‌های مرتبط به اندازه تولد، ژن MACROD2 را مرتبط با صفت تعداد پستانک گزارش کرد (Tao *et al*., 2021). همچنین هزارد و همکاران، ژن KCND2 را مرتبط با QTLهای رفتار مادری گزارش کردند (Hazard *et al*., 2018). دئو و همکاران، ژن LDB2 را مرتبط با صفات رشد و لاشه درجوجه‌های گوشتی شناسایی کردند (Dou *et al*., 2022). ونگ و همکاران ژن NBEA را مرتبط با صفات پشم و نیز استرس گرمایی معرفی کردند (Wang *et al*., 2015).

تزارسیانیدو و همکاران در بررسی ژنومی گوسفند مدیترانه‌ای، ژن NFS1 را مرتبط با صفت رشد غدد پستانی گزارش کردند (Tsartsianidou *et al*., 2021). همچنین گوان و همکاران، ژن NFS1 را مؤثر در مسیرهای متابولیکی ذکر کردند (Guan *et al*., 2016). پیکرینگ در بررسی منشأ ژنتیکی گوسفند آراپاوا نیوزلند، ژن NIPA1 را یک نشانه انتخاب معرفی کرد (Pickering, 2013). سوئیت جونز و همکاران در بررسی نشانه‌های انتخاب دو گونه گوسفند سیبری ژن SOCS6 را مسیر تنظیم گیرنده‌های انسولین شناسایی کردند (Sweet-Jones *et al*., 2021). محققان مختلفی در توالی‌یابی کل ژنوم گوسفند وحشی برای آداپتاسیون به شرایط آب و هوایی ژن USH2A را مرتبط با قدرت بینایی و شنوایی گزارش کردند (Upadhyay *et al*., 2021; Chen *et al*., 2021). همچنین عیداوی و همکاران در بررسی ژنومی گوسفندان خاورمیانه و آفریقا ژن USH2Aرا از ژن‌های کاندید مرتبط با مقاومت به بیماریها و آداپتاسیون به شرایط آب و هوا معرفی کرد (Eydivandi *et al*., 2020)

مواچارو و همکاران در تحقیقی برای شناسایی ردپای ژنومی گوسفند دنبه‌دار مصری برای سازگاری با استرس در زمین‌های خشک شرق آفریقا و غرب آسیا ژن ZBP1 را از ژن‌های کاندید در تقویت عملکرد ایمنی شناسایی کردند (Mwacharo *et al*., 2017). کریوروچکو و همکاران در مطالعه ژنوم گوسفند مرینوس گوشتی روسی برای ژن‌های کاندید صفات اقتصادی ژن BTB21 را در صفات مرتبط با رشد و توسعه سلول معنی‌دار گزارش کردند (Krivoruchko *et al*., 2020).

برای درک بهتر عملکرد مولکولی ژن‌های تحت انتخاب مثبت، هستی‌شناسی ژن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. ۳۲ مسیر بیولوژیکی که میزان P-value آن‌ها کمتر از ۰/۰۵ بود، به‌عنوان مسیرهای معنی‌دار معرفی شدند. در جدول ۳ برخی از مسیرهای مهم و معنی‌دار آمده است.

بیشتر مسیرهای زیستی شناسایی شده مربوط به کانال‌های عبور یون‌ها از غشای سلولی، فرآیندهای عصبی عضلات، رشد مغز و مخچه، رشد متانسفالون، انتقال غشایی یون‌های غیر آلی و مسیرهای مرتبط با تنظیم حمل و نقل یون‌ها در غشای سلولی می‌باشد (Deng *et al*., 2018).

نتیجه‌گیری کلی

بررسی مناطق ژنومی نشان داد که این مناطق به‌طور مستقیم و غیرمستقیم با صفات کیفیت و کمیت گوشت، شیر، چربی، استخوان، سیستم ایمنی و مقاومت به انگل مرتبط می‌باشند. مشخص نمودن صفات مهم اقتصادی و مکان‌یابی بخش‌هایی از ژنوم که در اثر انتخاب تغییر پیدا کرده‌اند، می‌توانند در برنامه‌های اصلاح نژادی گوسفند در کشور مورد استفاده قرار گیرد. البته با توجه به کامل نبودن اطلاعات مربوط به حاشیه‌نویسی عملکردی ژن‌ها در گونه گوسفند و همچنین کوچک بودن جمعیت‌های مورد بررسی، مطالعات بعدی با تعداد نمونه‌های بیشتر و نژادهای بیشتر از گوسفند اهلی و وحشی ایران، درک بهتری از ژن‌های کاندید برای صفات مهم اقتصادی در گونه‌های اهلی و وحشی ایجاد خواهد نمود. همچنین با تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌توانیم زمان و چرایی مشتق شدن نژادها و ژن‌های مسبب آن را مشخص کنیم. با انجام مطالعات بیشتر در رابطه با شناسایی گوسفندان وحشی ایران امید آن است که بتوانیم از این ذخیره ژنتیکی منحصر به فرد در دنیا محافظت کرده و با شناسایی خصوصیات ژنتیکی مطلوب این حیوانات، به‌جای واردات نژادهای خارجی بتوانیم بخشی از کاستی‌های گوسفند اهلی را با انتقال از گوسفند وحشی و یا پرورش خالص آن جبران کنیم.

جدول ۳- مسیرهای زیستی شناسایی شدهٔ معنی دار مرتبط با مناطق تحت انتخاب در نژادهای اهلی و وحشی

Table 3- Identified significant biological pathways related to the areas under selection in domestic and wild sheep breeds

ژن‌ها Genes	P value	مقادیر Count	بافت هدف Term	دسته Category
ATRN, GRID2, HERC1, RFX4	0.0017	4	توسعه مخچه GO:0021549~cerebellum development	GOTERM_BP_FAT
ATRN, GRID2, HERC1, RFX4	0.0022	4	توسعه متانسفالون GO:0022037~metencephalon development	GOTERM_BP_FAT
GRID2, GABRB1, KCNH5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0043	6	فعالیت کانال دروازه‌دار GO:0022836~gated channel activity	GOTERM_MF_FAT
GRID2, HERC1, RFX4	0.0052	3	مورفوژنز قشر مخچه GO:0021696~cerebellar cortex morphogenesis	GOTERM_BP_FAT
ATRN, GRID2, HERC1, RFX4	0.0056	4	توسعه مغز پسین GO:0030902~hindbrain development	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0059	5	غشا انتقال کاتیون غیر آلی GO:0098662~inorganic cation transmembrane transport	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0061	5	غشا انتقال یون‌های غیر آلی GO:0098660~inorganic ion transmembrane transport	GOTERM_BP_FAT
GRID2, HERC1, RFX4	0.0079	3	مورفوژنز مخچه GO:0021587~cerebellum morphogenesis	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0081	5	انتقال کاتیون غشایی GO:0098655~cation transmembrane transport	GOTERM_BP_FAT
GRID2, HERC1, RFX4	0.0089	3	مورفوژنز مغز پسین GO:0021575~hindbrain morphogenesis	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI	0.0099	4	تنظیم مثبت یون‌های عبورکننده GO:0043270~positive regulation of ion transport	GOTERM_BP_FAT
GRID2, GABRB1, KCNH5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0110	6	فعالیت کانال یونی GO:0005216~ion channel activity	GOTERM_MF_FAT
GRID2, HERC1, RFX4	0.0122	3	رشد قشر مخچه GO:0021695~cerebellar cortex development	GOTERM_BP_FAT
GRID2, GABRB1, KCNH5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0125	6	فعالیت اختصاصی کانال زیرلایه GO:0022838~substrate-specific channel activity	GOTERM_MF_FAT
GRID2, GABRB1, KCNH5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0140	6	فعالیت کانال GO:0015267~channel activity	GOTERM_MF_FAT
GRID2, GABRB1, KCNH5, GLRB, ITGAV, ANO6	0.0140	6	غیرفعال کردن کانال زیرلایه GO:0022803~passive transmembrane transporter activity	GOTERM_MF_FAT
OCA2, AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0143	6	حمل و نقل غشایی GO:0055085~transmembrane transport	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0143	5	حمل و نقل غشایی یون GO:0034220~ion transmembrane transport	GOTERM_BP_FAT
NIPA1, AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI, ATP6V1C2	0.0192	6	حمل و نقل غشایی کاتیون GO:0034220~ion transmembrane transport	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, ATP6V1C2	0.0217	4	حمل و نقل غشایی کاتیون غیر آلی تک ظرفیتی GO:0015672~monovalent inorganic cation transport	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, SRI	0.0247	3	تنظیم مثبت یون‌های عبورکننده غشایی GO:0034767~positive regulation of ion transmembrane transport	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI	0.0259	4	تنظیم یون‌های عبورکننده غشایی GO:0034765~regulation of ion transmembrane transport	GOTERM_BP_FAT
AKAP6, ANO6, SRI	0.0271	3	تنظیم مثبت عبورکننده غشایی GO:0034764~positive regulation of transmembrane transport	GOTERM_BP_FAT

Continue the table 3 | **ادامه جدول ۳**

AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI	0.0296	4	تنظیم عبورکننده غشایی GO:0034762~regulation of transmembrane transport(	GOTERM_BP_FAT
GRM3, GRID2, GLRB	0.0329	3	غشا پس سیناپسی GO:0045211~postsynaptic membrane	GOTERM_CC_FAT
GRID2, GABRB1, GLRB	0.0337	3	فعالیت کانال عبوردهنده یون‌های خارج سلولی GO:0005230~extracellular ligand-gated ion channel activity	GOTERM_MF_FAT
GRM3, GRID2, GABRB1, GLRB, SH3GL2	0.0347	5	سیناپس GO:0045202~synapse ()	GOTERM_CC_1
GRID2, GLRB, AKAP6, GPD1L	0.0393	4	تنظیم‌کننده بالقوه غشایی GO:0042391~regulation of membrane potential(	GOTERM_BP_FAT
NIPA1, AKAP6, ANO6, GPD1L, SRI	0.0413	5	انتقال‌دهنده یون‌های فلزی GO:0030001~metal ion transport	GOTERM_BP_FAT
CEP250, CCDC92, TTBK2	0.0429	3	سانتریول GO:0005814~centriole	GOTERM_CC_FAT
GRID2, GLRB, AKAP6, ANO6	0.0445	4	کانال‌های یونی ترکیبی GO:0034702~ion channel complex	GOTERM_CC_FAT
GRID2, HERC1, GLRB	0.0456	3	فرآیندهای عصبی- عضلانی GO:0050905~neuromuscular process	GOTERM_BP_FAT

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد و گرنت شماره ۳/۴۸۷۲۸ انجام پذیرفت.

References

1. Akey, J. M. (2009). Constructing genomic maps of positive selection in humans: Where do we go from here? *Genome Research*, *19*(5),711-722. http://dx.doi.org/10.1101/gr.086652.108.
2. Al Kalaldeh, M., Gibson, J., Lee, S. H., Gondro, C., & Van Der Werf, J. H. (2019). Detection of genomic regions underlying resistance to gastrointestinal parasites in Australian sheep. *Genetics Selection Evolution*, *51*(1),1-18. http://dx.doi.org/10.1186/s12711-019-0479-1.
3. Álvarez, I., Fernández, I., Traoré, A., Pérez-Pardal, L., Menéndez-Arias, N. A., & Goyache, F. (2020). Ancient homozygosity segments in West African Djallonké sheep inform on the genomic impact of livestock adaptation to the environment. *Animals*, *10*(7),1178. http://dx.doi.org/10.3390/ani10071178.
4. Bakhshalizadeh, S., Zerehdaran, S., & Javadmanesh, A. (2021). Meta-analysis of genome-wide association studies for somatic cells score trait in dairy cows. *Journal of Ruminant Research*, *9*(3),39-58. http://dx.doi.org/10.22069/ejrr.2021.19036.1787 (In Persian).
5. Chen, Z.H., Xu, Y.X., Xie, X.L., Wang, D.F., Aguilar-Gómez, D., Liu, G.J., Li, X., Esmailizadeh, A., Rezaei, V., Kantanen, J., Ammosov, I. Nosrati, M., Periasamy, K., Coltman, D.W., Lenstra, L.A., Nielsen, R., & Li M.H. (2021). Whole-genome sequence analysis unveils different origins of European and Asiatic mouflon and domestication-related genes in sheep. *Communications Biology*, *4*(1),1-15. http://dx.doi.org/s42003-021-02817-4.
6. Deng, X., Wang, D., Wang, S., Wang, H., & Zhou, H. (2018). Identification of key genes and pathways involved in response to pain in goat and sheep by transcriptome sequencing. *Biological Research*, *51*. http://dx.doi.org/10.1186/s40659-018-0174-7.
7. Dong, K., Yao, N., Pu, Y., He, X., Zhao, Q., Luan, Y., Guan, W., Rao, S., & Ma, Y. (2014). Genomic scan reveals loci under altitude adaptation in Tibetan and Dahe pigs. *PLoS One*, *9*(10),e110520. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0110520.
8. Dou, D., Shen, L., Zhou, J., Cao, Z., Luan, P., Li, Y., Xiao, F., Guo, H., Li, H., & Zhang, H. (2022). Genome-wide association studies for growth traits in broilers. *BMC Genomic Data*, *23*(1),1-9. http://dx.doi.org/10.1186/s12863-021-01017-7.
9. Duarte, D.A.S., Fortes, M.R.S., de Souza Duarte, M., Guimarães, S.E., Verardo, L.L., Veroneze, R., Ribeiro, A.M.F., Lopes, P.S., de Resende, M.D.V., & e Silva, F.F. (2017). Genome-wide association studies, meta-analyses and derived gene network for meat quality and carcass traits in pigs. *Animal Production Science*, *58*(6),1100-1108. http://dx.doi.org/10.1071/AN16018.

10. Durinck, S., Spellman, P. T., Birney, E., & Huber, W. (2009). Mapping identifiers for the integration of genomic datasets with the R/Bioconductor package biomaRt. *Nature protocols*, *4*(8),1184-1191. http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2009.97.
11. Eydivandi, S., Sahana, G., Momen, M., Moradi, M. H., & Schönherz, A. A. (2020). Genetic diversity in Iranian indigenous sheep vis-à-vis selected exogenous sheep breeds and wild mouflon. *Animal Genetics*, *51*(5),772-787. http://dx.doi.org/10.1111/age.12985.
12. Forough Ameri, N., Asadi Fouzi, M., & Vasmeilizade Keshkoi, A., (2015). Whole genome scanning of eight indigenous breeds of Iranian cattle to identify selection markers. *Livestock Production Magazine*, *18*(2),201-213. (In Persian).
13. Guan, D., Luo, N., Tan, X., Zhao, Z., Huang, Y., Na, R., Zhang, J., & Zhao, Y. (2016). Scanning of selection signature provides a glimpse into important economic traits in goats (*Capra hircus*). *Scientific Reports*, *6*(1),1-7. http://dx.doi.org/10.1038/srep36372.
14. Gunawan, A., Listyarini, K., Harahap, R.S., Jakaria, Roosita, K., Sumantri, C., Inounu, I., Akter, S.H., Islam, M.A., & Uddin, M.J. (2021). Hepatic transcriptome analysis identifies genes, polymorphisms and pathways involved in the fatty acids metabolism in sheep. *PloS One*, *16*(12),e0260514. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0260514.
15. Guomundsdottir, O. O. (2015). Genome-wide association study of muscle traits in Icelandic sheep (Doctoral dissertation). (Doctoral dissertation).
16. Hazard, D., Mace, T., Foulquie, D., Delval, E., Douls, S., Carriere, F., Pradel, J., Moreno, C., & Boissy, A. (2018). Genome wide association studies of maternal behaviours in sheep. In: 11. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP), pp. 1130-p. Massey Universtiy.
17. Jiao, D., Ji, K., Liu, H., Wang, W., Wu, X., Zhou, J., Zhang, Y., Zhou, H., Hickford, J.G., Degen, A.A., & Yang, G. (2021). Transcriptome analysis reveals genes involved in thermogenesis in two cold-exposed sheep breeds. *Genes*, *12*(3),375. http://dx.doi.org/10.3390/genes12030375.
18. Krivoruchko, A. Y., Yatsyk, O. A., & Safaryan, E. Y. (2020). Candidate genes for productivity identified by genome-wide association study with indicators of class in the Russian meat merino sheep breed. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, *24*(8),836. http://dx.doi.org/10.18699/VJ20.681.
19. Li, Z., He, X., Zhang, X., Zhang, J., Guo, X., Sun, W., & Chu, M. (2020). Transcriptome profile of key CircRNAs and MiRNAs in oviduct that affect sheep reproduction. http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-67727/v1.
20. Liu, G., Liu, R., Tang, X., Cao, J., Zhao, S., & Yu, M. (2015). Expression profiling reveals genes involved in the regulation of wool follicle bulb regression and regeneration in sheep. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(5),9152-9166. http://dx.doi.org/10. 3390 / ijms16059152.
21. Mohammadi, F., Tahmoorespur, M., & Javadmanesh, A. (2019). Study of differentially expressed genes, related pathways and gene networks in sheep fetal muscle tissue in thin-and fat-tailed breeds. *Animal Sciences Journal*, *32*(123),301-312. http://dx.doi.org/10.22092 /asj .2018 .122913.1749.
22. Mohammadi, H., Rafat, S. A., Moradi Shahrbabak, H., Shodja, J., & Moradi, M. H. (2020). Genome-wide association study and gene ontology for growth and wool characteristics in Zandi sheep. *Journal of Livestock Science and Technologies*, *8*(2),45-55. http://dx.doi.org/10.22103/jlst.2020.15795.1317. (In Persian).
23. Moradi, M. H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K. G., & McEwan, J. C. (2012). Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC Genetics*, *13*(1),1-15. http://dx.doi.org/10.1186/1471-2156-13-10.
24. Mwacharo, J. M., Kim, E. S., Elbeltagy, A. R., Aboul-Naga, A. M., Rischkowsky, B. A., & Rothschild, M. F. (2017). Genomic footprints of dryland stress adaptation in Egyptian fat-tail sheep and their divergence from East African and western Asia cohorts. *Scientific reports*, *7*(1),1-10. http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-17775-3.
25. Oldenbroek, K. (Ed.). (2007). *Utilisation and Conservation of Farm Animal Genetic Resources*. Wageningen Academic Publishers.
26. Pickering, N. K. (2013). Genetics of flystrike, dagginess and associated traits in New Zealand dual-purpose sheep. A thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Animal Science at Massey University, Palmerston North, New Zealand (Doctoral dissertation, Massey University).
27. Kaveh Pishghadam, N., Malekian, M., & Adavodi, R. (2017). Genetic assessment of funding population of wild sheep (*Ovis orientalis*) in Chadegan captive breeding site. *Journal of Animal Environment*, *9*(3),41-48. http://dx.doi.org/20.1001.1.27171388.1396.9.3.6.6.(In Persian).
28. Qanbari, S., Strom, T.M., Haberer, G., Weigend, S., Gheyas, A.A., Turner, F., Burt, D.W., Preisinger, R., Gianola, D., & Simianer, H. (2012). A high resolution genome-wide scan for significant selective sweeps: An application to pooled sequence data in laying chickens. *PloS one*, *7*(11),e49525. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0049525.
29. Qanbari, S., Pausch, H., Jansen, S., Somel, M., Strom, T.M., Fries, R., Nielsen, R., & Simianer, H. (2014). Classic selective sweeps revealed by massive sequencing in cattle. *PLoS Genetics*, *10*(2),e1004148. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1004148.

30. Sabeti, P.C., Reich, D.E., Higgins, J.M., Levine, H.Z., Richter, D.J., Schaffner, S.F., Gabriel, S.B., Platko, J.V., Patterson, N.J., McDonald, G.J., & Ackerman, H.C., Campbell, S. J., Altsshuler, D., Cooper, R., Kwiatkowski, D., Ward, R., & Lander, E. S. (2002). Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure. *Nature*, *419*(6909),832-837. http://dx.doi.org/10.1038/nature01140.
31. Sabeti, P.C., Varilly, P., Fry, B., Lohmueller, J., Hostetter, E., Cotsapas, C., Xie, X., Byrne, E.H., McCarroll, S.A., Gaudet, R., & Schaffner, S.F. (2007). Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations. *Nature*, *449*(7164),913-918. http://dx.doi.org/10.1038/nature06250.
32. Serranito, B., Cavalazzi, M., Vidal, P., Taurisson-Mouret, D., Ciani, E., Bal, M., Rouvellac, E., Servin, B., Moreno-Romieux, C., Tosser-Klopp, G., Hall, S.J. & Da Silva, A. (2021). Local adaptations of Mediterranean sheep and goats through an integrative approach. *Scientific Reports*, *11*(1),1-17. http://dx.doi.org/s41598-021-00682-z.
33. Suárez-Vega, A., Gutiérrez-Gil, B., & Arranz, J. J. (2016). Transcriptome expression analysis of candidate milk genes affecting cheese-related traits in 2 sheep breeds. *Journal of Dairy Science*, *99*(8),6381-6390. http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11048.
34. Sweet-Jones, J., Yurchenko, A. A., Igoshin, A. V., Yudin, N. S., Swain, M. T., & Larkin, D. M. (2021). Resequencing and signatures of selection scan in two Siberian native sheep breeds point to candidate genetic variants for adaptation and economically important traits. *Animal Genetics*, *52*(1),126-131. http://dx.doi.org/10.1111/age.13015.
35. Tao, L., He, X.Y., Wang, F.Y., Pan, L.X., Wang, X.Y., Gan, S.Q., Di, R., & Chu, M.X. (2021). Identification of genes associated with litter size combining genomic approaches in Luzhong mutton sheep. *Animal Genetics*, *52*(4),545-549. http://dx.doi.org/10.1111/age.13078.
36. Taheri, S., Zerehdaran, S., & Javadmanesh, A. (2020). Investigating genetic diversity and traces of selection in Iranian domestic and wild sheep and goats. M.Sc.Thesis of Ferdowsi University of Mashhad, Faculty of Agriculture, Mashhhad, Iran. (In Persian).
37. Tsartsianidou, V., Sánchez-Molano, E., Kapsona, V.V., Basdagianni, Z., Chatziplis, D., Arsenos, G., Triantafyllidis, A., & Banos, G. (2021). A comprehensive genome-wide scan detects genomic regions related to local adaptation and climate resilience in Mediterranean domestic sheep. *Genetics Selection Evolution*, *53*(1),1-17. http://dx.doi.org/10.1186/s12711-021-00682-7.
38. Upadhyay, M., Kunz, E., Sandoval-Castellanos, E., Hauser, A., Krebs, S., Graf, A., Blum, H., Dotsev, A., Okhlopkov, I., Shakhin, A., Bagirov, V., & Medugorac, I. (2021). Whole genome sequencing reveals a complex introgression history and the basis of adaptation to subarctic climate in wild sheep. *Molecular Ecology*, *30*(24),6701-6717. http://dx.doi.org/10.1111/mec.16184.
39. Wang, H., Zhang, L., Cao, J., Wu, M., Ma, X., Liu, Z., Liu, R., Zhao, F., Wei, C., & Du, L. (2015). Genome-wide specific selection in three domestic sheep breeds. *PloS One*, *10*(6),e0128688. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0128688.
40. Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1358-1370.
41. Wiener, P., Robert, C., Ahbara, A., Salavati, M., Abebe, A., Kebede, A., Wragg, D., Friedrich, J., Vasoya, D., Hume, D.A., Djikeng, A., & Clark, E. L. (2021). Whole-genome sequence data suggest environmental adaptation of Ethiopian sheep populations. *Genome Biology and Evolution*, *13*(3), evab014. http://dx.doi.org/10.1093/gbe/evab014.
42. Yang, J.I., Li, W.R., Lv, F.H., He, S.G., Tian, S.L., Peng, W.F., Sun, Y.W., Zhao, Y.X., Tu, X.L., Zhang, M., Xie, X.L., & Liu, M. J. (2016). Whole-genome sequencing of native sheep provides insights into rapid adaptations to extreme environments. Molecular Biology and Evolution, 33(10),2576-2592. http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msw129.
43. Zeraatpisheh, Y., Zerehdaran, S., & Javadmanesh, A. (2022). Investigation of metabolic pathways of genes related to the QTL of parasite resistance trait in sheep genome using gene network and gene ontology. *Veterinary Researches & Biological Products*. http://dx.doi.org/10.22092/vj.2022.357660.1941. (In Persian).